

学位授与番号	医博乙第1135号
学位授与年月日	平成3年7月3日
氏名	坂井健志
学位論文題目	糖化低比重リポ蛋白の臨床的意義—アフィニティクロマトグラフィーによる 測定法の検討ならびに糖尿病性血管障害進展への役割について
論文審査委員	主査 教授 竹田 亮 祐
	副査 教授 小林 健 一
	教授 松 田 保

内容の要旨および審査の結果の要旨

糖化低比重リポ蛋白 (glycosylated low density lipoprotein, G-LDL) はマクロファージの泡沫細胞化を介して粥状動脈硬化を促進すると想定されている。本研究では糖尿病の血管障害進展にG-LDLが果たす役割を明らかにする目的で、まずほう素酸アフィニティクロマトグラフィーを用いG-LDLの分離法を基礎的に検討した。方法は蛋白の非酵素的糖化で生ずるシス-デオール基が、アルカリ溶液中でほう素酸と可逆的な複合体を作る性質を利用している。分離方法はカラムに充填したアミノフェニールほう素酸アガロースゲルを0.25M酢酸アンモニウム、pH 9.0で平衡化後、血清から超遠心法で分離し調整したLDL溶液を添加しG-LDLを吸着させた。G-LDLの溶出には0.25M酢酸ナトリウム、pH 5.5を用いた。これにより1) 本アフィニティカラムにシス-デオール基をもつ¹⁴C-フルクトース、合成G-LDL溶液、合成¹⁴C-G-LDLを添加すると、酢酸ナトリウムで溶出した分画に放射活性や蛋白のピークが認められ、このピークとチオバルビタール法 (TBA) 法による5-ハイドロキシメチルフurfural生成量のピークが重なったため、この溶出分離した蛋白がG-LDLであると考えた。2) TBA法との定量性の相関も良好 ($r=0.914$) であった。3) カラムのベッド容量は 0.7×5 cm, 添加するLDLの蛋白量は0.9-1.8mgが適量であり、G-LDL値 (%) は添加したLDL溶液の総蛋白量に対する吸着溶出された蛋白量の比で算出した。次いで本法により糖尿病患者47例、耐糖能障害者13例、健常者17例を対象としてG-LDLを測定し、糖尿病コントロールの指標及び合併症との関連性につき検討を加えたところ、1) 糖尿病群のG-LDL値は $6.8 \pm 0.3\%$ で、耐糖能障害群の $4.8 \pm 0.2\%$ 、健常群の $3.9 \pm 0.3\%$ に比し有意 ($p < 0.001$) に高値であった。2) G-LDL値は1~2週間前の空腹時血糖 (FBG) と有意の相関を示した。 ($r=0.41$, $p < 0.05$) 3) 糖尿病の治療によりFBGが低下すると、G-LDLは2週間後には有意 ($P < 0.05$) に低下し、この変化は糖化ヘモグロビンよりも早期におこった。4) G-LDL値は虚血性心疾患など動脈硬化性疾患を合併する群でより高い傾向にあった。以上ほう素酸アフィニティクロマトグラフィーは血清のG-LDLの迅速かつ特異的な検出方法であり、本方法によるG-LDLの測定は糖尿病患者における動脈硬化性血管障害の病因解明に有用な情報をもたらすと考えられた。